

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 621 849**

51 Int. Cl.:

A61K 45/06	(2006.01)
A61K 31/19	(2006.01)
A61K 31/192	(2006.01)
A61K 31/16	(2006.01)
A61K 38/15	(2006.01)
A61P 17/00	(2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **26.06.2009 PCT/CN2009/072474**
- 87 Fecha y número de publicación internacional: **29.12.2010 WO10148572**
- 96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **26.06.2009 E 09846372 (2)**
- 97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **08.02.2017 EP 2445533**

54 Título: **Método de tratamiento o mejora de toxicidades mucocutáneas u oculares.**

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
05.07.2017

73 Titular/es:
**SUNNY PHARMTECH INC. (100.0%)
10F, No.27, Lane 155, Section 3 Beishen Road
Shenkeng District
New Taipei City, TW**

72 Inventor/es:

**PUI, NAM-MEW y
CHUNG, YIH-LIN**

74 Agente/Representante:

CARVAJAL Y URQUIJO, Isabel

ES 2 621 849 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín Europeo de Patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre Concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

Método de tratamiento o mejora de toxicidades mucocutáneas u oculares

Campo de la invención

5 La presente invención se refiere al tratamiento de trastornos de la piel, y en particular se refiere a usar un inhibidor de HDAC para tratar toxicidades mucocutáneas u oculares.

Descripción de la técnica relacionada

10 Con los avances en el entendimiento de las vías de señalización anómalas en diversas enfermedades o trastornos tales como el cáncer, enfermedad inflamatoria, trastorno inmunológico y enfermedad degenerativa, han surgido muchos reguladores esenciales del comportamiento, respuesta, crecimiento, supervivencia y apoptosis de células como candidatos, tales como EGFR, VEGF, tirosina cinasas, serina/treonina cinasas y MAPK/ERK para la terapia basada en dianas moleculares (Lacouture ME. Nat Rev Cancer 6:803-812, 2006). La experimentación debida a lo anterior ha conducido al desarrollo de técnicas de direccionamiento molecular innovadoras que incluyen anticuerpos monoclonales, moléculas químicas pequeñas, peptidomiméticos y oligonucleótidos antisentido. Sin embargo, la inhibición coincidente del receptor EGFR, actividad de tirosina cinasas o vías de MAPK/ERK en tejidos que dependen de la señalización para la función normal no tiene consecuencias deseables (Perez-Soler R, et al. J Clin Oncol 23:5235-5246, 2005). Debido a las funciones esenciales de la señalización de EGFR, tirosina cinasa y de MAPK/ERK en piel, mucosa y córnea, comúnmente se producen efectos secundarios no deseables a los sitios mucocutáneos y oculares. Se ha mostrado que la inhibición de EGFR, actividad de tirosina cinasas o vías de MAPK/ERK reduce la síntesis de ADN, detiene el crecimiento celular e induce la diferenciación prematura en queratinocitos (Miettinen PJ, et al. Nature 376:337-341, 1995). El bloqueo farmacológicamente mediado de EGFR produce la detención del crecimiento y la apoptosis en células que dependen de EGFR para la supervivencia, mediante la inhibición de vías aguas abajo tales como la vía de MAPK, la vía de PI3K (fosfatidilinositol 3-cinasa)-Akt, la vía de proteína cinasa activada por estrés que implica a la proteína cinasa C y la vía de la cinasa de Janus (Jak)-STAT (transductor de señales y activador de la transcripción). Como resultado de la inhibición de EGFR que se expresa principalmente en queratinocitos proliferantes no diferenciados en las capas basal y suprabasal de la epidermis y las capas externas del folículo piloso, la capa de la epidermis llega a ser más delgada, que altera la función de barrera y sensibiliza además a las células epiteliales a la luz UV y radiación. Por otra parte, la potenciada activación de EGFR está asociada a la elevada expresión de CXCL8, y reducida expresión de CCL2, CCL5 y CXCL10 (Mascia F, et al. Am J Pathol 163:303-312, 2003). A diferencia, se observa un patrón opuesto para la alteración de la activación de EGFR. En experimentación usando ratón, la administración a la piel de un inhibidor de tirosina cinasas de EGFR selectivo condujo a respuestas de hipersensibilidad de contacto más graves, con elevados niveles epidérmicos de CCL2, CCL5 y CXCL10, un número más alto de monocitos/macrófagos y linfocitos T en la piel. Los hallazgos sugirieron que EGFR modula la reacción de la piel afectando la expresión de quimiocinas en queratinocitos.

35 El EGFR gobierna el mantenimiento homeostático, reparación y reacción de tejidos epiteliales. Así, muchos fármacos de terapia dirigida que interfieren con las vías de señalización de EGFR o MAPK/ERK o la actividad de tirosina pueden producir cambios de la piel que incluyen erupción, piel seca, xerosis, picor, cutículas irritadas rojas, paroniquia, reacción o síndrome mano-pie, telangiectasia, y cambios en el crecimiento del pelo o color de la piel (Galimont-Collen AFS, et al. Eur J Cancer 43:845-851, 2007). Los cambios son efectos secundarios de respuestas normales del cuerpo debido al fármaco de terapia dirigida y no a signos de una alergia al fármaco. Los efectos secundarios pueden desarrollarse en eccema crónico y aumentar el riesgo de infecciones secundarias. Una sensibilidad dolorosa de las manos y los pies es el síntoma más temprano. Entonces, la rojez y la hinchazón empiezan en las palmas de las manos y las plantas de los pies. El cambio en la piel más común es una erupción papulopustular. Frecuentemente se parece mucho al acné y aparece sobre el cuero cabelludo, cara, pecho y la parte superior de la espalda. En casos graves puede afectar a otras partes del cuerpo, y las ampollas pueden abrirse y convertirse en llagas. La erupción es frecuentemente peor dentro de las primeras semanas del tratamiento dirigido molecular. A aproximadamente la 4ª semana de un tratamiento dirigido molecular, la piel normalmente se endurece y se pone muy seca y roja. En las semanas después de eso, frecuentemente aparecen puntos rojos redondos, planos o elevados y granos de "cabeza blanca" con pus en el centro. La erupción puede picar. La causa de la reacción o síndrome de mano-pie no se conoce concluyentemente. Puede tener que ver con daño a los minúsculos vasos sanguíneos en las manos y pies, o con los propios fármacos que se fugan de los vasos sanguíneos y causan el daño al tejido. También se han encontrado otros efectos secundarios menos comunes producidos por las terapias dirigidas en la mucosa y el ojo. Incluyen diarrea, náuseas, vómitos, llagas en la boca, tos y, en particular, tricomelia de las pestañas, que pueden arañar el ojo y puede ir acompañado de conjuntivitis y otros trastornos oculares que pueden conducir a molestia significativa y visión borrosa.

Las toxicidades mucocutáneas u oculares o efectos secundarios resultantes de la terapia dirigida molecular pueden ser dolorosas, producir molestia física y psico-social, y afectar a las capacidades de los pacientes para caminar, comer y llevar a cabo actividades normales. La interrupción del tratamiento dirigido o el retraso debido a las

toxicidades mucocutáneas u oculares se produce en muchos pacientes. Así, existe la necesidad de un método novedoso de tratamiento o mejora de las toxicidades.

Breve resumen de la invención

5 En el presente documento se describe una composición farmacéutica para su uso en el tratamiento de toxicidades oculares mucocutáneas, o efectos secundarios resultantes del bloqueo del crecimiento celular y las vías de transducción de señales de supervivencia, que comprende una cantidad terapéuticamente eficaz de un inhibidor de histona desacetilasa (HDAC) y/o una sal o solvato farmacéuticamente aceptable del mismo.

10 En el presente documento se describe una composición farmacéutica para su uso en disminuir los efectos secundarios dermatológicos o epiteliales de una erupción papulopustular, piel seca, picor, dermatitis, síndrome de mano-pie, mucositis, pérdida de pelo, elevado crecimiento de pestañas y vello facial, uñas deformadas frágiles e hinchazón periungueal resultante de la terapia molecular que se dirige a las vías del receptor de factor de crecimiento epidérmico (EGFR), MAPK (proteína cinasa activada por mitógeno)/ERK (cinasa regulada extracelular), receptor de factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF) o PI3K (fosfatidilinositol 3-cinasa)-Akt-mTOR con o sin combinación de quimioterapia y/o radioterapia en un sujeto en necesidad de la misma. La composición farmacéutica se usa para administrar tópicamente a una piel afectada o área de mucosa del sujeto una composición que comprende una cantidad eficaz de un inhibidor de HDAC, o un agente hiperacetilante seleccionado del grupo que consiste en ácido valproico, fenilbutirato o tricostatina A, y mezclas de los mismos, y una sal adecuada y/o un vehículo adecuado. El inhibidor de HDAC o el agente hiperacetilante se administra al paciente antes de la terapia dirigida molecular, durante la terapia dirigida molecular y/o después de la terapia dirigida molecular.

20 La invención proporciona una composición farmacéutica que comprende una cantidad terapéuticamente eficaz de un inhibidor de histona desacetilasa (HDAC) y/o una sal farmacéuticamente aceptable o solvato de la misma para su uso en el tratamiento de toxicidades mucocutáneas u oculares, o efectos secundarios resultantes del bloqueo del crecimiento celular y las vías de transducción de señales de supervivencia producido por un inhibidor de EGFR, en la que.

25 El inhibidor de HDAC es ácido valproico, fenilbutirato o tricostatina A.

En una realización, la composición farmacéutica no se administra por vía oral.

En una realización, la composición farmacéutica está presente en una cantidad de inhibidor de HDAC del 0,00001 % al 100 % en peso de la composición farmacéutica.

30 En una realización, la composición farmacéutica es una crema, una pomada, un gel, una pasta, un polvo, una solución acuosa, un spray, una suspensión, una dispersión, una pomada, una loción, un parche, un supositorio, una formación de liposoma, un enjuague bucal, un enema, una solución para inyección, un colirio, una gota ótica, una infusión por goteo, una microcápsula, una nanocápsula, un agente de condicionamiento de la piel oclusivo, un polímero biocompatible, o un agente para prolongar la retención y sostener la acción del inhibidor de HDAC en el tejido.

35 En una realización, la composición farmacéutica comprende además un agente potenciador de la penetración, o un agente de ajuste del pH para proporcionar un pH en el intervalo de aproximadamente 3,0 a 13,0.

40 En una realización, las toxicidades mucocutáneas u oculares, o efectos secundarios, comprenden efectos secundarios dermatológicos o epiteliales que incluyen erupción papulopustular, piel seca, picor, dermatitis, síndrome de mano-pie, mucositis, pérdida de pelo, elevado crecimiento de las pestañas y vello facial, y/o uñas deformadas frágiles e hinchazón periungueal.

45 En el presente documento se describe el uso de una composición que comprende una cantidad eficaz de un inhibidor de HDAC, o un agente hiperacetilante seleccionado del grupo que consiste en ácido valproico, fenilbutirato, tricostatina A y mezclas de los mismos, y una sal adecuada y/o un vehículo adecuado en la fabricación de un medicamento para disminuir los efectos secundarios dermatológicos o epiteliales de una erupción papulopustular, piel seca, picor, dermatitis, síndrome de mano-pie, mucositis, pérdida de pelo, elevado crecimiento de las pestañas y vello facial, uñas deformadas frágiles e hinchazón periungueal resultante de la terapia molecular que se dirige a las vías de receptor del factor de crecimiento epidérmico (EGFR), MAPK (proteína cinasa activada por mitógeno)/ERK (cinasa regulada extracelular), receptor del factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF) o de PI3K (fosfatidilinositol 3-cinasa)-Akt-mTOR con o sin combinación de quimioterapia y/o radioterapia.

50 En el presente documento se describe una combinación que comprende un inhibidor de HDAC y/o una sal farmacéuticamente aceptable o solvato de la misma, y un inhibidor de EGFR. Preferentemente, la combinación es una forma de una composición farmacéutica que comprende un inhibidor de HDAC y/o una sal farmacéuticamente

aceptable o solvato de la misma, y un inhibidor de EGFR. Preferentemente, el inhibidor de HDAC y el inhibidor de EGFR se administran simultáneamente al sujeto en la misma formulación y la misma vía, o secuencialmente en una formulación diferente y/o una vía diferente.

5 En el presente documento se describe un método de tratamiento de enfermedades o trastornos bloqueando las vías de activación de EGFR, de tirosina cinasa o de MAPK/ERK, o cualquiera de los efectos biológicos aguas abajo de La activación de EGFR o de tirosina cinasa sin producir toxicidades oculares mucocutáneas, o efectos secundarios, que comprende la administración de una combinación que comprende un inhibidor de HDAC y/o una sal farmacéuticamente aceptable o solvato de la misma, y un inhibidor de EGFR. Las enfermedades o trastornos relevantes están seleccionados de cáncer, enfermedad inflamatoria, trastorno inmunológico y enfermedad degenerativa. Las toxicidades oculares mucocutáneas, o efectos secundarios, incluyen efectos secundarios dermatológicos o epiteliales de erupción papulopustular, piel seca, picor, dermatitis, síndrome de mano-pie, mucositis, pérdida de pelo, elevado crecimiento de las pestañas y vello facial, y/o uñas deformadas frágiles e hinchazón periungueal.

15 En el presente documento se describe un uso de una composición farmacéutica que comprende un inhibidor de HDAC y/o una sal farmacéuticamente aceptable o solvato de la misma, y un inhibidor de EGFR en la fabricación de un medicamento para tratar enfermedades o trastornos bloqueando las vías de activación de EGFR, de tirosina cinasa o de MAPK/ERK, o cualquiera de los efectos biológicos aguas abajo de la activación de EGFR o de tirosina cinasa sin producir toxicidades oculares mucocutáneas, o efectos secundarios. Las enfermedades o trastornos relevantes están seleccionados de cáncer, enfermedad inflamatoria, trastorno inmunológico y enfermedad degenerativa. Las toxicidades oculares mucocutáneas, o efectos secundarios, incluyen efectos secundarios dermatológicos o epiteliales de erupción papulopustular, piel seca, picor, dermatitis, síndrome de mano-pie, mucositis, pérdida de pelo, elevado crecimiento de las pestañas y vello facial, y/o uñas deformadas frágiles e hinchazón periungueal.

Se da una descripción detallada en las siguientes realizaciones con referencia a los dibujos adjuntos.

25 Breve descripción de los dibujos

La presente invención puede entenderse más completamente leyendo la posterior descripción detallada y ejemplos con referencias hechas al dibujo adjunto, en las que:

la Fig. 1 muestra que diferentes inhibidores de HDAC afectan los efectos del inhibidor de EGFR sobre la expresión de la quimiocina que está asociada a efectos secundarios de la piel;

30 la Fig. 2 muestra que el tratamiento con el inhibidor de HDAC tópico puede mejorar la hinchazón de piel de ratón aumentada por la inhibición de EGFR. Se usó la prueba de la t de Student para determinar la diferencia estadística (* $P < 0,05$) entre el gel de placebo y el gel al 2,5 % de fenilbutirato. Se usó ANOVA unilateral seguido de la prueba de Dunnett para comparar los valores con la inhibición de EGFR. $^{\wedge}P < 0,05$ se consideró significativo frente a PD168393 (es decir, A-[(3-bromofenil)amino]-6-acrilamidoquinazolina, un inhibidor de EGFR); y

35 la Fig. 3 muestra la comparación de histología (H&E) de ejemplos representativos de la reacción de la piel aumentada por el inhibidor de EGFR (PD168393) con la irritación por DNFB a las 48 horas en las orejas de ratones tratados con o sin el gel de placebo o gel al 2,5 % de fenilbutirato.

La siguiente descripción es el modo mejor contemplado para llevar a cabo la invención.

40 La inhibición de las vías de EGFR, tirosina cinasas o MAPK/ERK en tejidos mucocutáneos u oculares puede producir la proliferación, migración, diferenciación y apoptosis anormal de células diana y epiteliales, y la consecuente alteración de la integridad de la piel, mucosa y córnea, con el posterior reclutamiento de células inflamatorias. Así, se cree que la localización de los efectos secundarios a los sitios mucocutáneos u oculares y la alta frecuencia de las reacciones reflejan la función de las vías de EGFR, tirosina cinasas y MAPK/ERK en la epidermis, folículo piloso, tejidos periungueales, de mucosa y oculares.

45 La invención demuestra que la administración de un inhibidor de HDAC formulado en un vehículo adecuado es eficaz en mejorar la reacción de la piel anormalmente aumentada por el inhibidor de EGFR. Así, pueden usarse ventajosamente inhibidores de HDAC para tratar las toxicidades de la piel de otro modo producidas por el uso de un inhibidor de la señalización de EGFR, tirosina cinasa o MAPK/ERK. Por consiguiente, la presente invención proporciona una composición farmacéutica que comprende un inhibidor de HDAC en un vehículo farmacéuticamente aceptable para su uso en el tratamiento o mejora de toxicidades oculares mucocutáneas, o efectos secundarios resultantes del bloqueo del crecimiento celular y las vías de transducción de señales de supervivencia.

Como se usa en el presente documento, el término "inhibidor de EGFR, tirosina cinasa o MAPK/ERK" se refiere a

cualquier inhibidor de EGFR, tirosina cinasa o MAPK/ERK que es actualmente conocido en la técnica e incluye cualquier entidad química que, tras la administración a un sujeto, produce la inhibición de una actividad biológica asociada a la activación de los EGFR, tirosina cinasas o vías de MAPK/ERK en el sujeto, que incluye cualquiera de los efectos biológicos aguas abajo resultantes de otro modo de la unión a un EGFR de su ligando natural. Tales inhibidores de EGFR, tirosina cinasa o MAPK/ERK incluyen cualquier agente que pueda bloquear las vías de activación de EGFR, de tirosina cinasa o de MAPK/ERK, o cualquiera de los efectos biológicos aguas abajo de la activación de EGFR o de tirosina cinasa que son relevantes para tratar un cáncer, enfermedad inflamatoria, trastorno inmunológico o enfermedad degenerativa en un sujeto. Un inhibidor tal puede actuar uniéndose directamente al dominio extracelular o intracelular del receptor del factor de crecimiento, inhibiendo su actividad de tirosina cinasas asociada, o interfiriendo con la cascada de transducción de la señalización aguas abajo relacionada mediante la actividad de serina/treonina. Alternativamente, tal inhibidor de tirosina cinasas puede actuar inhibiendo los transductores de señales aguas abajo con actividad de tirosina cinasas.

El término "inhibidor de tirosina cinasas" se refiere a agentes naturales o sintéticos que son activados para inhibir o bloquear tirosina cinasas, tirosina cinasas de receptor o sitios de unión a ATP de las cinasas. Los llamados inhibidores de EGFR, tirosina cinasa o MAPK/ERK incluyen, pero no se limitan a, inhibidores de bajo peso molecular, anticuerpos o fragmentos de anticuerpos, construcciones antisentido (ADN o ARN), peptidomiméticos y ribozimas.

Los inhibidores de HDAC activan y reprimen un subconjunto de genes remodelando la estructura de cromatina de los mismos mediante el estado alterado en la acetilación de histona (Marks et al., *J. Natl. Cancer Inst.*, 92: 1210-1216, 2000; Kramer et al., *Trends Endocrinol. Metab.*, 12: 294-300, 2001). La hiperacetilación de histonas produce la regulación por incremento de inhibidores del ciclo celular (p21Cip1, p27Kip1 y p16INK4), la regulación por disminución de oncogenes (Myc y Bcl-2), la represión de citocinas inflamatorias (interleucina (IL)-1, IL-8, TNF-alfa y TGF-beta), o ningún cambio (GAPDH y gamma-actina) (Lagger et al., *EMBO J.*, 21 : 2672-2681, 2002; Richon et al., *Clin. Cancer Res.*, 8: 662-667, 2002; Richon et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, 97: 10014-10019, 2000; Van Lint et al., *Gene Expr.*, 5: 245-243, 1996; Huang et al., *Cytokine*, 9: 27-36, 1997; Mishra et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, 98: 2628-2633, 2001; Stockhammer et al., *J. Neurosurg.*, 83: 672-681, 1995; Segain et al., *Gut*, 47: 397-403, 2000; Leoni et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 99: 2995-3000, 2002). Además de inducir la hiperacetilación de histonas, los inhibidores de HDAC también inducen la hiperacetilación de proteínas no de histona tales como la subunidad ribosómica S3, p53 o Rel-A de NF-kappa B, modulan la actividad de proteína cinasa C (PKC), inhiben la isoprenilación de proteínas, disminuyen la metilación de ADN y se unen a receptores nucleares (Webb et al., *J. Biol. Chem.*, 274: 14280-14287, 1999; Chen et al., *Science*, 293: 1653-1657, 2001). Los inhibidores de HDAC han presentado propiedades en inducir la detención del ciclo celular, diferenciación celular y muerte de células apoptósicas en células tumorales y en disminuir la inflamación y fibrosis en enfermedades inflamatorias (Warrell et al., *J. Natl. Cancer Inst.*, 90: 1621-1625, 1998; Vigushin et al., *Clin. Cancer Res.*, 7: 971-976, 2001; Saunders et al., *Cancer Res.*, 59: 399-404, 1999; Gottlicher et al., *EMBO J.*, 20: 6969-6978, 2001; Rombouts et al., *Acta Gastroenterol. Belg.*, 64: 239-246, 2001). Aunque los efectos de los inhibidores de HDAC inducen la acetilación de histonas a granel, producen muerte de células apoptósicas, diferenciación terminal y detención del crecimiento en células tumorales, pero no toxicidad en células normales (Garber et al., *J. Natl. Cancer Inst.*, 94: 793-795, 2002). Además, la modulación de la conformación de cromatina por los inhibidores de HDAC puede radiosensibilizar además a tumores cuyas células son intrínsecamente radiorresistentes, y también sensibilizar a células tumorales a quimioterapia (Ferrandina et al., *Oncol. Res.*, 12: 429-440, 2001; Miller et al., *Int. J. Radiat. Biol.*, 72: 211-218, 1997; Biade et al., *Int. J. Radiat. Biol.*, 77: 1033-1042, 2001).

Los compuestos activos son, en general, agentes hiperacetilantes de histona, tales como inhibidores de HDAC. Se conocen numerosos de tales compuestos. Véase, por ejemplo, P. Dulski, *Histone Deacetylase as Target for Antiprotozoal Agents*, solicitud PCT WO 97/11366 (27 de marzo de 1997). Ejemplos de tales compuestos incluyen, pero no se limitan a:

A. Tricostatina A y sus análogos tales como: Tricostatina A (TSA); y tricostatina C (Koghe et al. 1998. *Biochem. Pharmacol.* 56: 1359-1364) (la tricostatina B ha sido aislada, pero no se muestra que sea un inhibidor de HDAC).

B. Péptidos, tales como: Oxamflatina (Kim et al. *Oncogene*, 18:2461-2470 (1999)); trapoxina A (TPX) (Kijima et al., *J. Biol. Chem.* 268, 22429-22435 (1993)); FR901228, depsipéptido (Nakajima et al., *Ex. Cell Res.* 241, 126-133 (1998)); FR225497, tetrapéptido cíclico (H. Mori et al., solicitud PCT WO 00/08048 (17 de febrero de 2000)); apicidina (Darkin-Rattray et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 93, 13143-13147 (1996)); apicidina Ia, apicidina Ib, apicidina Ic, apicidina IIa y apicidina IIb (P. Dulski et al., solicitud PCT WO 97/11366); toxina HC (Bosch et al., *Plant Cell* 7, 1941-1950 (1995)); WF27082 (solicitud PCT WO 98/48825); y clamidocina (Bosch et al., arriba).

C. Compuestos polares híbridos basados en ácido hidroxámico (HPC), tales como: ácido salicililhidroxámico (SBHA) (Andrews et al., *International J. Parasitology* 30, 761-768 (2000)); ácido hidroxámico de suberoilánilida (SAHA) (Richon et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 95, 3003-3007 (1998)); ácido bishidroxámico azelaico (ABHA) (Andrews et al., arriba); azelaico-1-hidroxamato-9-anilida (AAHA) (Qiu et al., *Mol. Biol. Cell* 11, 2069-2083 (2000)); bishidroxamida de ácido M-carboxicinámico (CBHA) (Ricon et al., arriba); ácido hidroxámico 6-(3-

clorofenilureido)carpoico (3-CI-UCHA) (Richon et al., arriba); MW2796 (Andrews et al., arriba); y MW2996 (Andrews et al., arriba). Obsérvese que análogos no eficaces como inhibidores de HDAC son: Hexametilenbisacetamida (HBMA) (Richon et al. 1998, PNAS, 95:3003-3007); y bis(pentametileno-N,N-dimetilcarboxamida)malonato de dietilo (EMBA) (Richon et al. 1998, PNAS, 95:3003-3007).

5 D. Compuestos de ácido graso de cadena corta (SCFA), tales como: Butirato de sodio (Cousens et al., J. Biol. Chem. 254, 1716-1723 (1979)); isovalerato (McBain et al., Biochem. Pharm. 53: 1357-1368 (1997)); ácido valproico; valerato (McBain et al., arriba); 4-fenilbutirato (4-PBA) (Lea y Tulsyan, Anticancer Research, 15, 879-873 (1995)); fenilbutirato (PB) (Wang et al., Cancer Research, 59, 2766-2799 (1999)); propionato (McBain et al., arriba); butrimida (Lea y Tulsyan, arriba); isobutiramida (Lea y Tulsyan, arriba); fenilacetato (Lea y Tulsyan, arriba); 3-bromopropionato (Lea y Tulsyan, arriba); y tributirina (Guan et al., Cancer Research, 60, 749-755 (2000)).

E. Derivados de benzamida, tales como: MS-27-275 [N-(2-aminofenil)-4-[N-(piridin-3-ilmetoxicarbonil)aminometil]benzamida] (Saito et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 96, 4592-4597 (1999)); y derivado de 3'-amino de MS-27-275 (Saito et al., arriba).

15 F. Otros inhibidores, tales como: Depudecina [sus análogos (mono-MTM-depudecina y depudecina-biséter) no inhiben HDAC] (Kwon et al. 1998. PNAS 95:3356-3361); y scriptaid (Su et al. 2000 Cancer Research, 60:3137-3142).

El segundo compuesto, combinado con el inhibidor de HDAC, incluye, pero no se limita a, una citocina, un inhibidor de citocina, una interleucina, un inhibidor de interleucina, un factor de crecimiento, un agente angiogénico, un inhibidor angiogénico, un agente antineoplásico, un agente antiinflamatorio, un esteroide, un agente inmunosupresor, un fármaco antiinflamatorio no esteroideo, un agente analgésico, un antihistamínico, un anticolinérgico, un agente antiprurítico, un agente antibacteriano, un agente antiviral, un agente antifúngico, un agente antiparasítico, un agente antioxidante, ácido retinoico, un agente antifibrogénico, un agente vasoactivo, un agonista de receptor de adenosina, una vitamina, un modificador de leucotrieno, un antagonista de interleucina, un antagonista de quimiocina, un inhibidor de mastocitos, un anticuerpo anti-IgE, un inhibidor selectivo de la recaptación de serotonina (SSRI), un antagonista de receptor de 5-hidroxitriptamina (5-HT), un agonista del receptor del activador del proliferador del peroxisoma (PPAR), un inhibidor de calcineurina, un antagonista del receptor del péptido liberador de gastrina, un inhibidor de MAP cinasas p38, un factor de crecimiento de queratinocitos (KGF), un inhibidor de HDAC, un retinoide, un modulador de NFκB, gabapentina, sucralfato y naloxona.

Los compuestos pueden formularse como composiciones farmacéuticas. Tales composiciones pueden administrarse por vía oral, por vía parenteral, por espray de inhalación, por vía rectal, por vía vaginal, por vía intradérmica, por vía transdérmica o por vía tópica en formulaciones unitarias de dosificación que contienen excipientes, adyuvantes y vehículos farmacéuticamente aceptables no tóxicos convencionales según se desee. La administración tópica puede también implicar el uso de administración transdérmica tal como parches transdérmicos o dispositivos de iontoforesis. El término parenteral, como se usa en el presente documento, incluye inyección subcutánea, intravenosa, intramuscular o intraesternal, o técnicas de infusión. La formulación de fármacos se trata en, por ejemplo, Hoover, John E., Remington's Pharmaceutical Sciences, Mack Publishing Co., Easton, Pa. (1975), y Liberman, H. A. y Lachman, L., Eds., Pharmaceutical Dosage Forms, Marcel Decker, New York, N. Y. (1980).

En una realización, las preparaciones para el tratamiento de efectos secundarios de la piel resultantes del uso del inhibidor de EGFR, tirosina cinasa o MAPK/ERK tienen generalmente como objetivo proporcionar una condición para aumentar la capacidad de manipulación de la piel. Se reconocen categorías de formulaciones para las composiciones de cuidado de la piel, que incluyen cremas, pomadas, geles, esprays, lociones, tónicos para la piel, champús o espumas. Los esprays para la piel están generalmente compuestos de copolímeros aerosolizados, tales como polivinilpirrolidona, acetato de vinilo, y similares, y también pueden funcionar como una loción fijadora. Las preparaciones de gel para la piel son similares a los esprays en composición, pero están en forma libre de gel y alcohol, y pueden cubrir la piel. La espuma para la piel es espuma liberada bajo presión de un bote aerosolizado. El componente inhibidor de HDAC en una composición de cuidado para la piel tópica según la presente invención está preferentemente presente a una concentración del 0,00001 al 100,00 % en peso con respecto al peso total de la composición, o en una dosificación de 1 a 1000 mg. Una composición de cuidado de la piel para tratar lesiones de la piel según la presente invención puede formularse como una crema hidrófoba o hidrófila, pomada, gel, emoliente, espray, loción, tónico para la piel, champús o espuma, adecuadamente con componentes adicionales adecuados para su uso en composiciones de cuidado de la piel de tipos conocidos en la técnica, en los que tales componentes adicionales pueden incluir petrolato, ceras, lanolina, silicona, liposomas, aceites vegetales, minerales, plastificantes, fragancias, conservantes, un agente potenciador de la penetración, un agente de ajuste del pH u otros componentes adecuados para composiciones tópicas para la piel. Tales componentes pueden humectar la piel, estabilizar el compuesto activo, aumentar el contacto fármaco-piel y la concentración local, controlar la liberación lenta del fármaco y/o ayudar en la disminución de la rotura de la piel, previniendo la atrofia de la piel, fibrosis e infección, y promoviendo la cicatrización de la piel. El agente de ajuste del pH se proporciona para ajustar el pH de la formulación en el intervalo de aproximadamente 3,0 a 13,0.

En el presente documento se describe la composición farmacéutica para su uso en el tratamiento de efectos secundarios de la piel resultantes del uso del inhibidor de EGFR, tirosina cinasa, VEGF, serina/treonina cinasa o MAPK/ERK como se describe en el presente documento, que comprende una composición que proporciona al menos un inhibidor de HDAC, junto con al menos uno o varios de otros agentes, que incluyen una citocina, un inhibidor de citocina, una interleucina, un inhibidor de interleucina, un factor de crecimiento, un agente angiogénico, un inhibidor angiogénico, un agente antineoplásico, un agente antiinflamatorio, un esteroide, un agente inmunosupresor, un fármaco antiinflamatorio no esteroideo, un agente analgésico, un antihistamínico, un anticolinérgico, un agente antiprurítico, un agente antibacteriano, un agente antiviral, un agente antifúngico, un agente antiparasítico, un agente antioxidante, ácido retinoico, un agente antifibrogénico, un agente vasoactivo, un agonista de receptor de adenosina, una vitamina, un modificador de leucotrieno, un antagonista de interleucina, un antagonista de quimiocina, un inhibidor de mastocitos, un anticuerpo anti-IgE, un inhibidor selectivo de la recaptación de serotonina (SSRI), un antagonista de receptor de 5-hidroxitriptamina (5-HT), un agonista del receptor del activador del proliferador del peroxisoma (PPAR), un inhibidor de calcineurina, un antagonista del receptor del péptido liberador de gastrina, un inhibidor de MAP cinasas p38, un factor de crecimiento de queratinocitos (KGF), un inhibidor de HDAC, un retinoide, un modulador de NFκB, gabapentina, sucralfato y naloxona, en la que los principios activos están presentes en forma libre o en forma de una sal farmacéuticamente aceptable o solvato para uso simultáneo, separado o secuencial por vía sistémica o por vía tópica.

Las toxicidades oculares mucocutáneas, o efectos secundarios, incluyen efectos secundarios dermatológicos o epiteliales de erupción papulopustular, piel seca, picor, dermatitis, síndrome de mano-pie, mucositis, pérdida de pelo, elevado crecimiento de las pestañas y vello facial, y/o uñas deformadas frágiles e hinchazón periungueal. El inhibidor de EGFR, tirosina cinasa, VEGF, serina/treonina cinasa o MAPK/ERK puede ser un agente de terapia dirigida de anticuerpo, fragmento de anticuerpo, compuesto químico de molécula pequeña dirigida, inhibidor de tirosina cinasas de bajo peso molecular, peptidomimético, oligonucleótido antisentido (ADN y/o ARN), o ribozima, que inhibe las vías de receptor del factor de crecimiento epidérmico (EGFR), MAPK (proteína cinasa activada por mitógeno)/ERK (cinasa regulada extracelular), factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF) y/o PI3K (fosfatidilinositol 3-cinasa)-Akt-mTOR.

Sales adecuadas para los componentes que van a emplearse según la presente materia también son aquellas con cationes inorgánicas, por ejemplo sales de metales alcalinos, en particular sales de sodio, potasio o de amonio, sales de metales alcalinotérreos tales como, en particular, las sales de magnesio o de calcio, además de sales con cationes bi- o tetravalentes, por ejemplo las sales de cinc, aluminio o circonio. También se contemplan sales con bases orgánicas, tales como sales de dicitclohexilamina; metil-D-glucamina; y sales con aminoácidos, tales como arginina, lisina, histidina, glutamina, etc. Por tanto, los grupos que contienen nitrógeno básicos pueden estar cuaternizados con agentes tales como haluros de alquilo inferior, tales como cloruros, bromuros y yoduros de metilo, etilo, propilo y butilo; sulfatos de dialquilo, tales como sulfatos de dimetilo, dietilo, dibutilo y diamilo; haluros de cadena larga, tales como cloruros, bromuros y yoduros de decilo, laurilo, miristilo y estearilo; haluros aromáticos, tales como bromuros de bencilo y fenetilo; y otros. También pueden emplearse agentes formadores de sal, por ejemplo, alquilaminas de bajo peso molecular tales como metilamina, etilamina o trietilamina. Así se obtienen productos solubles en agua o aceite o dispersables.

La cantidad de principio activo que puede combinarse con los materiales de vehículo para producir una dosificación única variará dependiendo del sujeto y el modo particular de administración. La dosificación requerida variará según varios factores conocidos para aquellos expertos en la materia, que incluyen, pero no se limitan a, el compuesto o compuestos usados, la especie de sujeto, el tamaño del sujeto y la gravedad de la patología asociada. Los compuestos pueden administrarse en una dosis única, en múltiples dosis durante un periodo de 24 horas, o por infusión continua. Cuando se administran por infusión continua, los compuestos pueden suministrarse por métodos muy conocidos en la técnica, tales como, pero no se limitan a, goteo intravenoso por gravedad, bomba de infusión intravenosa, bomba de infusión implantable, o cualquier vía tópica. La duración del tratamiento variará dependiendo de muchos factores, por ejemplo, la duración y gravedad de las lesiones de la piel o mucosa. El tratamiento del sujeto con el inhibidor de HDAC o en combinación con otros agentes puede durar hasta que desaparezcan las lesiones mucocutáneas u oculares, o el tratamiento continuará durante la vida del sujeto.

En una realización para su uso en el tratamiento de las lesiones de la mucosa, se selecciona un polímero biocompatible de manera que cuando el polímero biocompatible se incorpore en la composición terapéutica, la viscosidad de la composición terapéutica aumente al aumentar temperatura en la proximidad de la temperatura fisiológica, que normalmente es aproximadamente 37 °C. De esta forma, la composición terapéutica puede administrarse como un medio fluido capaz de fluir de viscosidad más baja a una temperatura fría, y la viscosidad de la composición terapéutica aumentará a medida que se calienta la composición terapéutica a temperatura fisiológica. En una realización preferida para muchas aplicaciones cuando se desea que la composición terapéutica presente comportamiento de viscosidad térmica inversa, la composición terapéutica presenta comportamiento de viscosidad térmica inversa durante al menos algún intervalo de temperaturas entre 1 °C y la temperatura fisiológica del huésped (por ejemplo, 37 °C para un huésped humano). Polímeros biocompatibles que pueden usarse para preparar la composición terapéutica incluyen, en general, un polímero bioadhesivo, un polímero catiónico, un gel de polímero viscoso, un hidrogel, un polímero natural, un copolímero de bloque de polioxilalquileno y un polímero de gelificación

térmica inversa. La composición terapéutica puede incluir, además del polímero biocompatible, un agente bioadhesivo separado que potencia las propiedades bioadhesivas de la composición terapéutica. El agente bioadhesivo es frecuentemente un segundo polímero que tiene incluso mayores propiedades bioadhesivas.

5 La composición terapéutica puede formularse además con sucralfato en una forma de gel más densa que puede ser administrada con cuchara en la boca y tragada para recubrir el tubo GI completo. Dependiendo del área de administración, la sustancia farmacéutica también puede formularse en diferentes formas de producto. Algunos ejemplos de posibles formas de producto para administración de la composición terapéutica incluyen una solución oral, solución de irrigación de la vejiga, gel, suspensión, enjuague bucal, pastilla para chupar, comprimido, película, parche, piruleta, espray, gotas o supositorio. Por ejemplo, un gel formulado en un supositorio sería una forma de producto preferida para administración para tratar superficies de la mucosa de tanto el recto como la vagina. Podría usarse una suspensión o solución oral para el tratamiento de superficies de la mucosa en la cavidad bucal, esófago y/o tubo GI.

Ejemplo

Ejemplo 1: Supresión de CCL2 por el inhibidor de HDAC

15 Debido a que la inhibición de las vías de EGFR puede producir reacción de la piel con elevados niveles epidérmicos de CCL2, se usó ELISA para detectar los niveles de CCL2 en el sobrenadante de cultivos de queratinocitos tratados con o sin el inhibidor de EGFR PD 168393 y/o diferentes inhibidores de HDAC. La regulación por incremento de los niveles de quimiocina CCL2 durante el tratamiento de 24 horas del inhibidor de EGFR (PD168393) se suprimió en los sobrenadantes de los queratinocitos que se pre-trataron con diferentes inhibidores de HDAC (ácido valproico (5 mM), fenilbutirato (5 mM) y tricostatina A (5 nM)), respectivamente, durante 2 horas (FIG. 1). Los resultados se expresan como la media de tres experimentos independientes \pm DE.

Ejemplo 2: Preparación de diferentes formulaciones de inhibidor de HDAC para el tratamiento de la piel

A: Preparación de gel de fenilbutirato

25 Parte I: Se mezclaron 10 g de Stabileze QM.RTM. y 380,561 g de agua desionizada en un vaso de precipitados y se calentó a 70 °C.

Parte II: Se mezclaron 5,739 g de 4-fenilbutirato de sodio (Merck), 0,125 g de metilparabeno (Merck), 0,075 g de propilparabeno (Merck), 83,5 g de 1,2-propanodiol y 20 g de 10 % de NaOH en un vaso de precipitados y se calentó a 70 °C.

30 La parte II se añadió lentamente a la parte I y se agitó continuamente a 400 rpm durante 20 minutos para formar una mezcla. La mezcla se enfrió a temperatura ambiente.

B: Preparación de formulación liposomal de fenilbutirato

35 En esta formulación liposomal, se usaron fosfatidilcolina de huevo (EPC) y colesterol en concentraciones equimolares o de molaridad diferente como componentes lipídicos primarios. Se obtuvieron diversos liposomas localizados con 4-fenilbutirato de sodio variando la ración de lípido y fenilbutirato. Se prepararon liposomas por hidratación de película fina, se dimensionaron por extrusión en membrana y se evaluaron físicamente.

C: Preparación de pomada de tricostatina A

Se mezclaron 472,5 g de vaselina filante (Riedel-de Haen), 27 g de cera de parafina 50/52 (proveedor local) y 0,5 g de tricostatina A (sigma) en un vaso de precipitados y se calentaron a 70 °C para formar una pasta. La pasta se agitó a 400 rpm durante 1 hora, y entonces se enfrió a temperatura ambiente.

40 D: Preparación de una pomada oleaginosa de tricostatina A

Se mezclaron 67,5 g de vaselina filante (Riedel-de Haen), 16 g de alcohol cetílico (Riedel-de Haen), 260,5 g de parafina blanda (Merck), 155,5 g de parafina líquida (Merck), y 0,5 g de tricostatina A (sigma) en un vaso de precipitados y se calentó a 70 °C para formar una pasta. La pasta se agitó a 400 rpm durante 1 hora, y luego se enfrió a temperatura ambiente.

45 E: Preparación de crema de ácido valproico

Parte I: Se mezclaron 70 g de Tefose 63.RTM., 20 g de Superpolystate.RTM., 10 g de Coster 5000.RTM., 15 g de

Myriol 318.RTM., 15 g de Coster 5088.RTM. y 15 g de GMS SE. RTM. (todos comercialmente disponibles del proveedor local) en un vaso de precipitados y se calentaron a 70 °C.

Parte II: Se mezclaron 5,739 g de ácido valproico (sigma), 0,125 g de metilparabeno (Merck), 0,075 g de propilparabeno (Merck) y 149,061 g de agua desionizada en un vaso de precipitados y se calentaron a 70 °C.

- 5 La parte II se añadió lentamente a la parte I y se agitó continuamente a 400 rpm durante 5 minutos para formar una mezcla. Se añadió 2 % de Stabileze QM.RTM.D (se preparó disolviendo 2 g de Stabileze QM.RTM. en 98 g de agua desionizada, se calentó y se agitó a 70 °C para formar una pasta, y se enfrió a temperatura ambiente) en la mezcla y se agitó durante 5 minutos. El pH de la mezcla se ajustó a 5,34 con 0,85 % de ácido fosfórico (Merck), y se agitó a 600 rpm durante 20 minutos. La mezcla se enfrió a temperatura ambiente.

10 **Ejemplo 3: Supresión del inhibidor de EGFR por el inhibidor de HDAC *in vivo***

15 Para la prueba de reacción de la piel aumentada por el inhibidor de EGFR, grupos (n = 5, cada uno) de ratones macho BALB/c que pesaban 22 ± 2 g recibieron administración tópica en cada lado de cada oreja 10 µl del vehículo (DMSO/etanol absoluto 1/10) o soluciones de PD168393 (4 mmol/l) 30 minutos antes de la irritación con 10 µl de 0,5 % de 2,4-dinitrofluorobenceno (DNFB) en la oreja derecha de los animales de prueba (Pastore S, et al. J Immunol 174:5047-5056, 2005).

20 Para tratar la reacción de la piel aumentada por el inhibidor de EGFR, se aplicó por vía apical gel al 2,5 % de 4-fenilbutirato, o el placebo (base de gel) en la oreja derecha 3 veces a intervalo de 3 horas de antemano en el día 0 y día 1. En el día 1, 60 minutos después del primer tratamiento de fenilbutirato o placebo, se aplicó PD168393 por vía apical 30 minutos antes de la irritación con 0,5 % de DNFB en la oreja derecha. Los tratamientos segundo y tercero del fenilbutirato y placebo en el día 1 se aplicaron 1 hora y 3 horas después de la irritación de DNFB. La hinchazón de la oreja se midió con un medidor de espesor de micrómetros modelo Dyer 0, 3, 6, 8, 24 y 48 horas después de la irritación con DNFB. Como control del tratamiento para la comparación se administró por vía tópica el esteroide fuerte dexametasona (0,3 mg) 60 minutos antes y 15 minutos después de la irritación de DNFB. Se midió el espesor de la oreja derecha e izquierda de cada ratón con un medidor de espesor de micrómetros modelo Dyer. El edema de la oreja se calculó restando el espesor de la oreja izquierda (control normal) de la oreja derecha (oreja tratada).

30 Con referencia a las Fig. 2 a 3, la administración tópica de PD 168393 4 mM solo, DMSO solo, la base de gel de placebo sola, o el gel al 2,5 % de fenilbutirato no tuvo efecto sobre el espesor de la oreja, y no indujeron ningún cambio en la histología normal de la piel. Por el contrario, se aplicó PD 168393 4 mM 30 minutos antes de que la irritación de DNFB condujera al agravamiento de la respuesta de la piel inducida por DNFB. Sin embargo, la piel pre-tratada con el gel al 2,5 % de fenilbutirato produjo una reducción significativa de la hinchazón de la oreja aumentada por el inhibidor de EGFR inducida por la irritación de DNFB 3, 6, 8, 24, y 48 horas después de la irritación de DNFB en comparación con la piel pre-tratada con la base de gel de placebo (FIG. 2 y 3). Aunque la dexametasona no suprimió la reacción de la piel aumentada por el inhibidor de EGFR con pico a 3, 6 y 8 horas después de la irritación de DNFB, mostró un efecto significativamente supresor sobre la hinchazón de la piel 24 horas después de la irritación de DNFB. El grado supresor por la dexametasona sobre la hinchazón de la piel a las 24 horas después de la irritación de DNFB fue mayor que aquél por el fenilbutirato. Por tanto, los resultados sugirieron que la dexametasona no es eficaz en la supresión de la reacción de la piel aumentada por el inhibidor de EGFR, y parece que el gel al 2,5 % de fenilbutirato tiene beneficio terapéutico sobre los efectos secundarios dermatológicos aumentados por la inhibición de EGFR.

40 Aunque la invención se ha descrito a modo de ejemplo y en términos de las realizaciones preferidas, debe entenderse que la invención no se limita a las realizaciones desveladas. Al contrario, pretende cubrir diversas modificaciones y disposiciones similares (como sería evidente para aquellos expertos en la materia). Por tanto, el alcance de las reivindicaciones adjuntas debe ser conferido a la interpretación más amplia de manera que englobe todas aquellas modificaciones y disposiciones similares.

45

REIVINDICACIONES

- 5 1. Una composición farmacéutica que comprende una cantidad terapéuticamente eficaz de un inhibidor de histona desacetilasa (HDAC) y/o una sal farmacéuticamente aceptable o solvato de la misma para su uso en el tratamiento de toxicidades mucocutáneas u oculares o efectos secundarios resultantes del bloqueo del crecimiento celular y las vías de transducción de señales de supervivencia producidas por un inhibidor de EGFR (factor de crecimiento epidérmico receptor), en la que el inhibidor de HDAC comprende ácido valproico, fenilbutirato o tricostatina A.
2. La composición para su uso según la reivindicación 1, en la que la composición farmacéutica no se administra por vía oral.
- 10 3. La composición para su uso según la reivindicación 1, en la que en la composición farmacéutica está presente una cantidad de inhibidor de HDAC del 0,00001 % al 100 % en peso de la composición farmacéutica.
- 15 4. La composición para su uso reivindicado en la reivindicación 1, en la que la composición farmacéutica es una crema, una pomada, un gel, una pasta, un polvo, una solución acuosa, un spray, una suspensión, una dispersión, una pomada, una loción, un parche, un supositorio, una formación de liposoma, un enjuague bucal, un enema, una solución para inyección, un colirio, una gota ótica, una infusión por goteo, una microcápsula, una nanocápsula, un agente de condicionamiento de la piel oclusivo, un polímero biocompatible, o un agente para prolongar la retención y sostener la acción del inhibidor de HDAC en el tejido.
5. La composición para su uso según la reivindicación 1, en la que la composición farmacéutica comprende además un agente potenciador de la penetración, o un agente de ajuste del pH para proporcionar un pH en el intervalo de aproximadamente 3,0 a 13,0.
- 20 6. La composición para su uso según la reivindicación 1, en la que las toxicidades mucocutáneas u oculares, o efectos secundarios, comprenden efectos secundarios dermatológicos o epiteliales que incluyen erupción papulopustular, piel seca, picor, dermatitis, síndrome de mano-pie, mucositis, pérdida de pelo, elevado crecimiento de las pestañas y vello facial, y/o uñas deformadas frágiles e hinchazón periungueal.

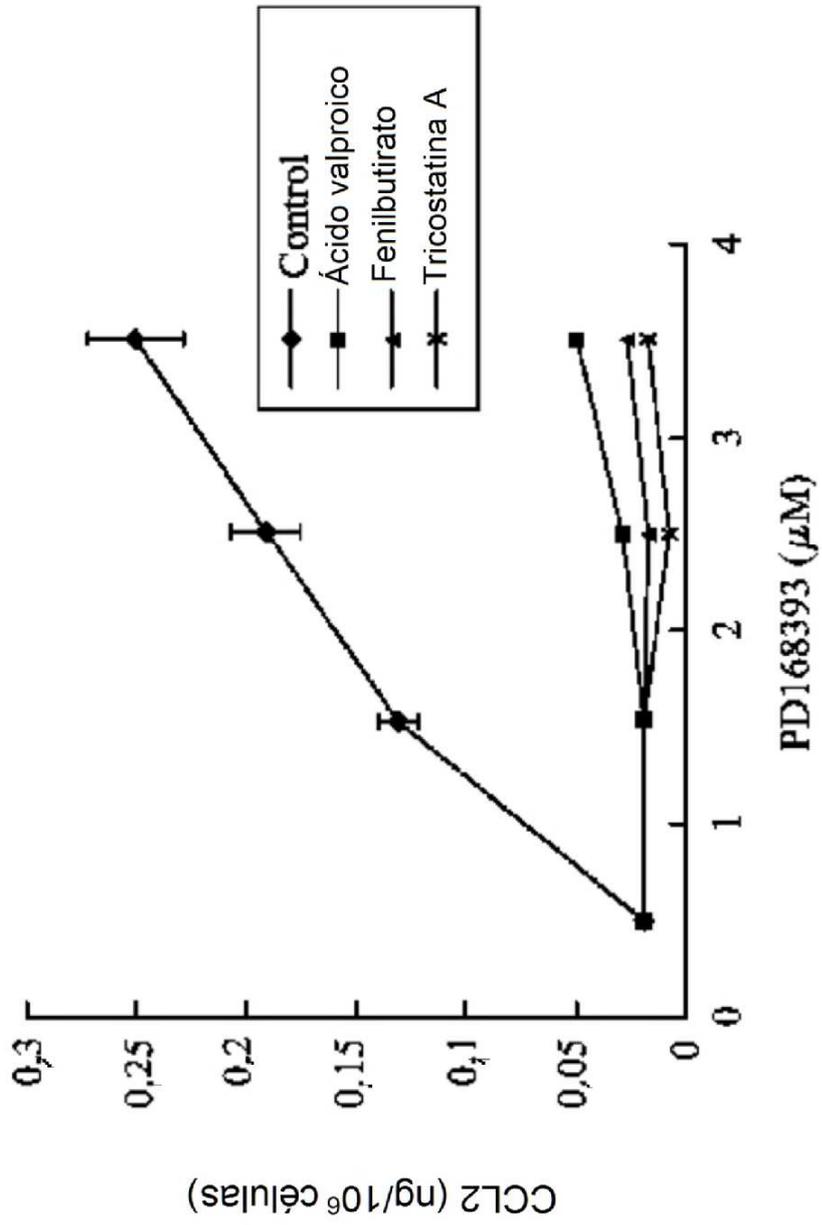


FIG. 1

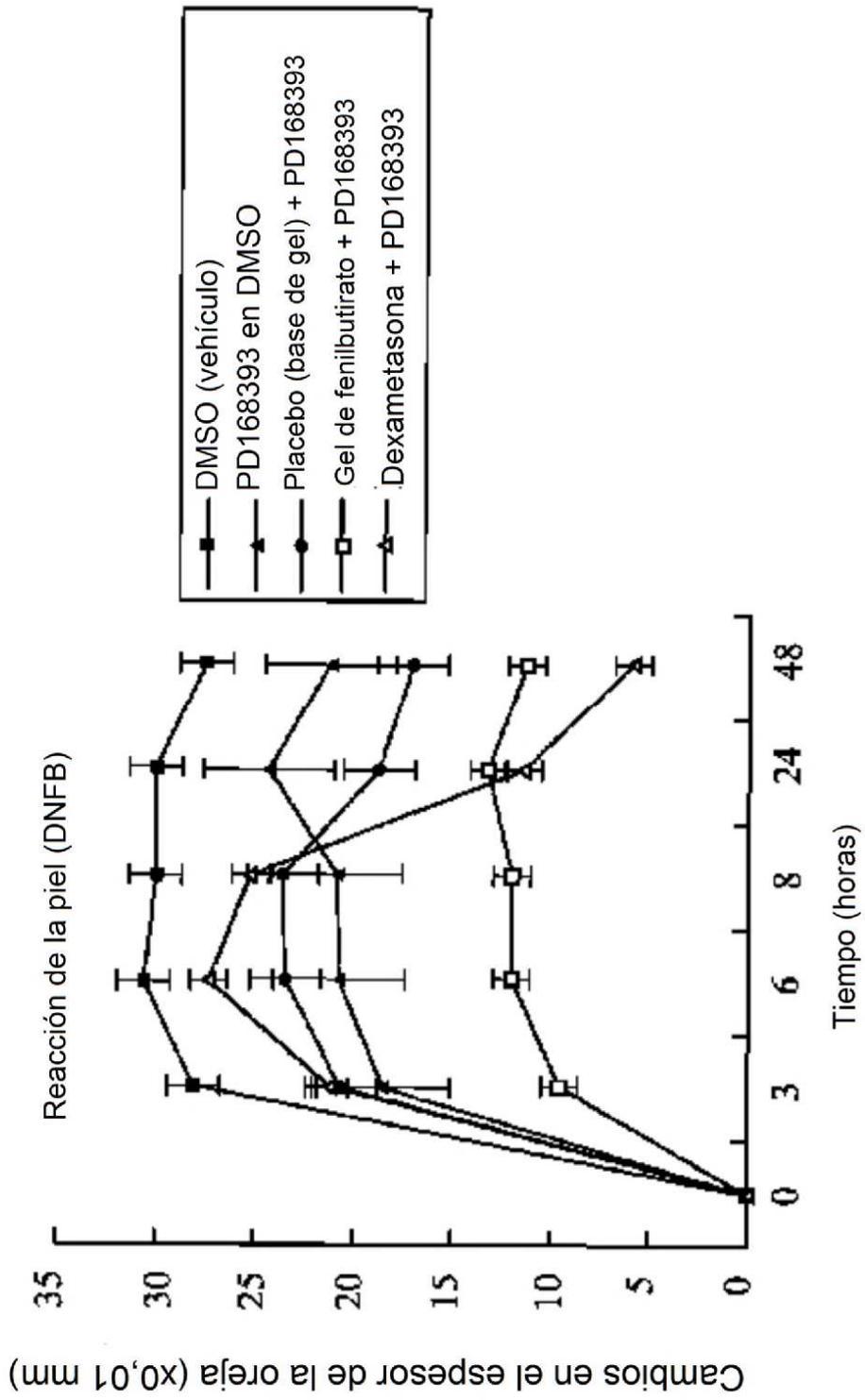


FIG. 2

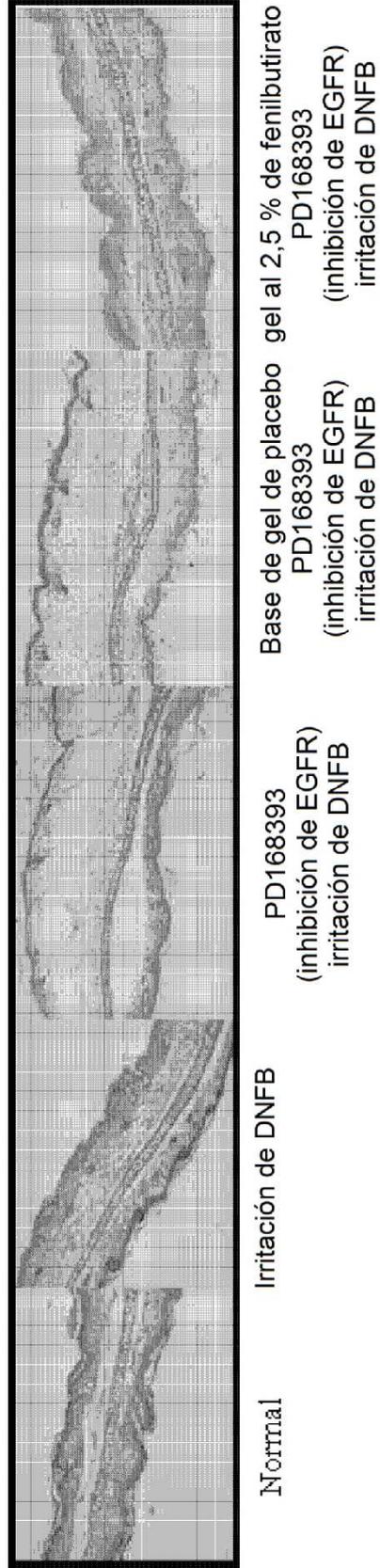


FIG. 3